Cryptogamie, Mycol. 1988, 9 (3) : 201-209

RECHERCHE SUR LES MÉCANISMES INTERVENANT DANS LES INTERACTIONS SYMBIOTIQUES PLANTE-CHAMPIGNONS ENDOMYCORHIZOGÈNES VA

par V. GIANINAZZI-PEARSON*, S. GIANINAZZI*, J. DEXHEIMER**, D. MORANDI*, A. TROUVELOT* et E. DUMAS*

RÉSUMÉ — Comme la plupart des plantes forment des endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA), il est vraisemblable que des systèmes de compatibilité plante-hôte / champignons VA aient été développés au cours de l'évolution. Dans cet article, nous discutons l'existence de phénomènes de reconnaissance, du contrôle de l'hôte sur le développement du champignon VA [redacted] de la mise en place d'une compatibilité fonctionnelle permettant les échanges nutritifs entre les deux symbiotes.

SUMMARY — Since the large majority of plant species form vesicular arbuscular (VA) endomycorrhizae, it is highly probable that compatibility systems have been specifically developed by the mycorrhizal associates during their evolution. This paper discusses evidence for recognition phenomena and host control over fungal development in VA endomycorrhizae, together with the role of these processes in the establishment of functional compatibility, characterized by nutrient exchange, between the symbionts.

MOTS CLÉS : endomycorhizes VA, interactions symbiotiques, infection endomycorhizienne, compatibilité.

INTRODUCTION

Lorsqu'on considère les différentes relations plante/microorganismes, il est remarquable de constater que la presque totalité des espèces végétales forme le même type d'association symbiotique, à savoir les endomycorhizes à vésicules et arbuscules (VA) (GIANINAZZI-PEARSON, 1984). On peut alors se demander si, au cours de leur évolution, les plantes et les champignons VA n'ont pas développé spécifiquement des systèmes de compatibilité réciproque assurant leur développement dans les différents écosystèmes colonisés.

* Station d'Amélioration des Plantes, INRA, BV 1540, 21034 Dijon Cedex, France.

** Laboratoire de Biologie des Ligneux, BP 235, 54500 Vandœuvre-les-Nancy Cedex, France.

A

ap
h
a
a
40 µm

B

NM
M
cellules externes
boucle
parenchyme cortical
arbuscule

L'utilisation raisonnée en pratique culturale des associations endomycorhiziennes pour optimiser la croissance des végétaux nécessite de bien comprendre les mécanismes qui permettent l'établissement et le fonctionnement de cette symbiose. Pour que des endomycorhizes se forment, il doit exister entre le champignon et la plante-hôte des phénomènes de reconnaissance réciproque qui assurent l'intégration morphologique et la compatibilité fonctionnelle entre les deux partenaires (GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1988). Vu la complexité structurale et physiologique des associations endomycorhiziennes (GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1986), les phénomènes de reconnaissance entre les deux symbiotes peuvent se situer à plusieurs niveaux de l'interaction entre les deux organismes, à savoir, avant, durant et après le contact initial. C'est ainsi que nous étudions les interactions au niveau cellulaire et moléculaire entre les deux partenaires pour préciser les mécanismes qui déterminent la mise en place et le contrôle de l'infection endomycorhizienne ainsi que la compatibilité fonctionnelle entre plante et champignon. En particulier, nous essayons de répondre à un certain nombre de questions fondamentales :

– Y-a-t-il des phénomènes de reconnaissance entre les deux symbiotes ? Des signaux sont-ils échangés entre les cellules des deux organismes ? Et quelles sont les molécules spécifiques impliquées ?

– Quelle est la nature morphologique et biochimique des interfaces entre plante et champignon VA ? Et quel rôle jouent-elles dans les échanges entre les deux partenaires ?

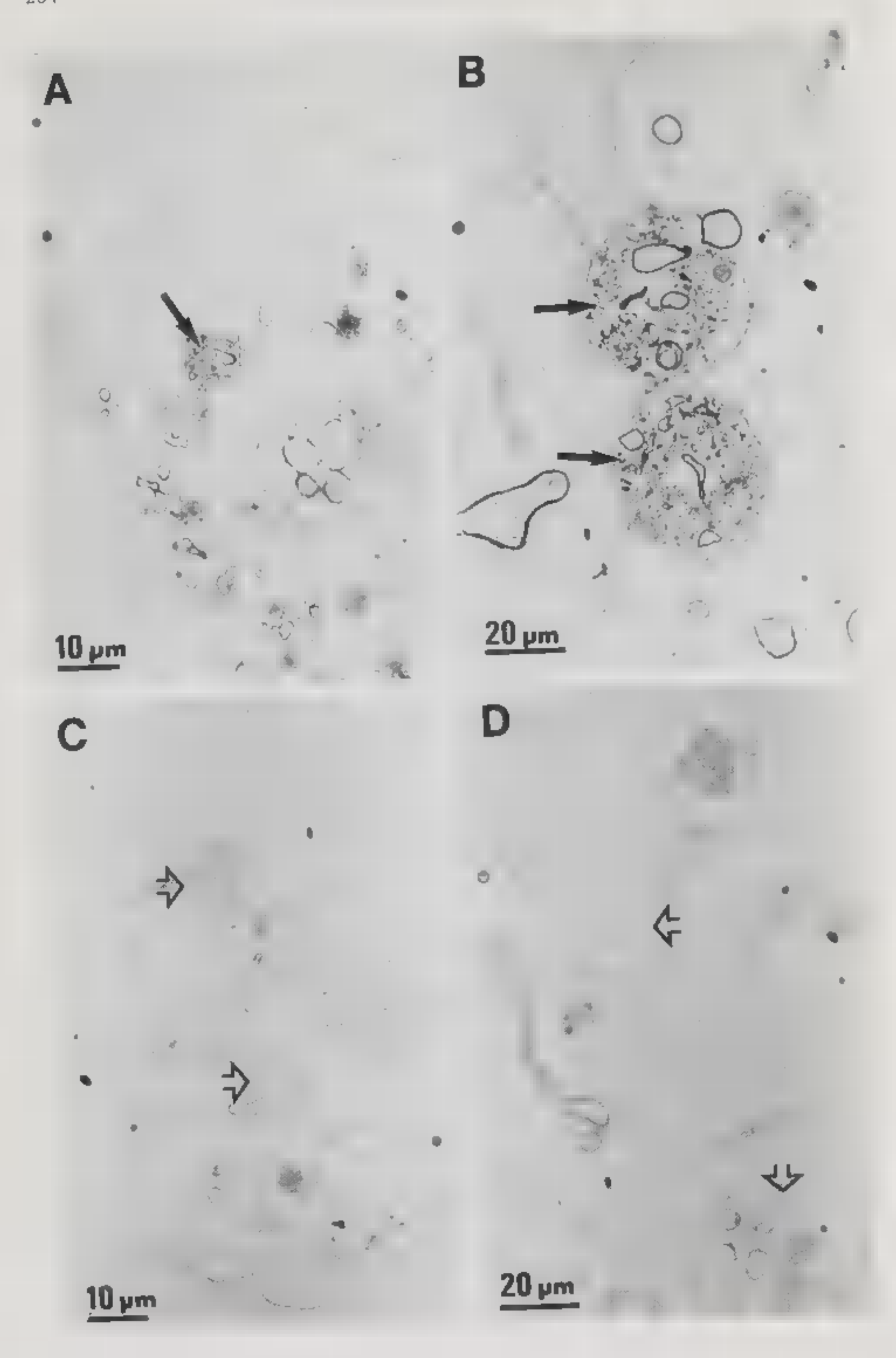
I. – MISE EN PLACE DE LA SYMBIOSE AU NIVEAU TISSULAIRE ET CELLULAIRE

Chez les endomycorhizes VA, la rencontre entre le champignon et une racine semble se faire au hasard. Les hyphes, une fois entrées en contact avec la surface racinaire de l'hôte, se différencient d'une façon plus ou moins marquée, en appressorium, traduisant ainsi la reconnaissance des cellules hôtes par l'endophyte. La pénétration qui s'en suit est intercellulaire ou intracellulaire, les deux

---

Planche 1 – A : pénétration de *Glomus mosseae* dans une racine d'*Allium porrum*; on y observe la formation d'un appressorium (ap) et des hyphes (h) traversant les cellules externes et formant des arbuscules (a) dans les cellules internes du parenchyme. – B : représentation schématique de la localisation d'activité ATPasique plasmalemmique (*) de la plante-hôte dans les cellules d'une racine infectée (M) ou non (NM) par un champignon endomycorhizogène VA.

Plate 1 – A : Infection of an *Allium porrum* root by *Glomus mosseae*; an appressorium (ap) is formed at the root surface, hyphae (h) cross the outer cells and arbuscules (a) develop in the parenchymal cells of the cortex. – B : Diagrammatic representation of host plasmalemma-bound ATPase activity (*) in cells of an endomycorrhizal (M) and nonmycorrhizal (NM) root.


A
B
C
D
10 µm
20 µm
10 µm
20 µm

processus étant facilités par l'action lytique du champignon VA (KINDEN & BROWN, 1975; GIANINAZZI-PEARSON & al., 1981; JACQUELINET-JEANMOUGIN & al., 1988). Dans le cas d'une pénétration intracellulaire, l'hyphe traverse les cellules des couches externes de la racine linéairement ou en formant une simple boucle. Ensuite au niveau du parenchyme cortical, le champignon prolifère et forme des arbuscules intracellulaires (Pl. 1). Cette modification morphologique, spécifiquement induite dans les cellules du parenchyme cortical, aboutit à la formation d'un haustorium endocellulaire où la paroi modifiée du champignon (BONFANTE-FASOLO, 1982) est en contact étroit avec le plasmalemme de la cellule-hôte (DEXHEIMER & al., 1979). Les bases moléculaires de cette induction ne sont pas connues, mais il est évident que les molécules ou signaux responsables doivent être communs à la plupart des espèces végétales. Ces observations jointes au fait que le champignon VA ne franchit jamais le cylindre central ni le méristème racinaire traduisent l'existence d'un contrôle de l'infection par la plante-hôte au niveau tissulaire.

La réaction de la plante à la pénétration fongique, au niveau des cellules externes de la racine, semble se limiter à la prolifération du plasmalemme autour de l'hyphe et au dépôt, par cette membrane, de matériel pariétal contre la paroi fongique (BONFANTE-FASOLO, 1984). Dans les cellules du parenchyme cortical, la réaction de la cellule-hôte à la pénétration du champignon est dans un premier temps semblable à ce qui se passe dans une cellule externe; ensuite avec le développement de l'arbuscule, l'aspect de la cellule-hôte change complètement pour ressembler à celui d'une cellule juvénile : la vacuole est très fragmentée et son volume extrêmement réduit, alors que le volume du cytoplasme, le nombre d'organites et la surface des systèmes membranaires (plasmalemme et réticulum endoplasmique) augmentent considérablement. Simultanément et avec la progression du champignon VA dans la cellule, le dépôt de matériel pariétal dans l'interface devient de plus en plus faible jusqu'à être réduit à quelques fibrilles éparses (BONFANTE-FASOLO & al., 1981). Le champignon semble donc interférer avec l'activité de la cellule-hôte pour empêcher le dépôt

---

Planche 2 — Visualisation en microscopie optique de protéines b codées par la plante (GIANINAZZI, 1984), par la technique d'immunomarquage avec amplification à l'argent (VANDERBOSCH, 1986), dans les racines de *Nicotiana tabacum* var. Xanthi-nc infectées par *Glomus mosseae* (résultats non publiés). — A, B : incubation de coupes semi-fines avec un anticorps monoclonal anti-b_1 (CARR & al., 1987) et localisation d'immunomarquage dans les cellules contenant des arbuscules vivants (⬅). C, D : témoin sans incubation avec l'anticorps; absence d'immunomarquage dans les cellules infectées (⇦).

Plate 2 — Light microscope localisation of plant-coded b-proteins (GIANINAZZI, 1984), using the silver enhancement technique (VANDERBOSCH, 1986), in roots of *Nicotiana tabacum* var. Xanthi-nc infected by *Glomus mosseae* (unpublished results). — A, B : immunolabelling in cells with living arbuscules (⬅) in a root section incubated with anti-b_1 monoclonal antibody (CARR & al., 1987). — C, D : control section incubated without antibody; absence of immunolabelling in infected cells (⇦).

de ce matériel et ainsi échapper à son contrôle. Ces interactions champignon VA/cellule-hôte présentent aussi l'avantage de rapprocher au maximum les deux protoplastes (fongique et végétal) en favorisant ainsi des échanges nutritionnels réciproques entre les deux symbiotes. Toutefois cette situation est limitée dans le temps, au bout de quelques jours l'arbuscule meurt encapsidé par ce matériel glycoprotéique et la cellule-hôte retrouve graduellement son aspect normal (JACQUELINET-JEANMOUGIN & al., 1988). Le champignon poursuit son développement en infectant d'autres cellules de la racine, mais l'infection n'est pas synchronisée au niveau tissulaire et on peut retrouver les différentes étapes dans une même section de la racine.

Ces observations font ressortir l'existence de phénomènes de reconnaissance réciproque entre champignon VA et plante : la morphologie du champignon ainsi que sa structure pariétale changent avec son développement dans les tissus racinaires; l'hôte réagit à cette colonisation et met en place des processus pour la limiter.

II. – MÉCANISMES DE CONTRÔLE DE L'INFECTION MYCORHIZIENNE

Bien qu'on ne sache pas encore comment la plante exerce un contrôle sur le développement du champignon, nous avons constaté que l'infection VA induit chez la plante-hôte l'apparition de molécules considérées comme indicatrices des phénomènes de résistance aux microorganismes. En effet, nous avons montré chez le soja (MORANDI & al., 1984) que le champignon VA provoque dans les racines une augmentation de la teneur en phytoalexines et en certains isoflavonoïdes analogues, composés dont l'action antimicrobienne est connue (BAILEY & MANSFIELD, 1982). De plus, nous venons de mettre en évidence, dans les cellules infectées de mycorhizes de tabac, la présence de protéines b (Pl. 2) connues pour être associées à la localisation d'une infection fongique au niveau des parties aériennes (GIANINAZZI & al., 1980).

III. – COMPATIBILITÉ FONCTIONNELLE

L'intégration morphologique qui résulte de la cohabitation des deux partenaires endomycorhiziens permet la mise en place d'échanges bidirectionnels entre macro et microsymbiote. L'interface vivante qui se développe au niveau de l'arbuscule entre le plasmalemme de l'hôte et la paroi de l'endophyte est considérée comme une structure essentielle à l'état symbiotique de l'association endomycorhizienne VA. Comme cette interface fonctionnelle doit jouer un rôle très important non seulement dans l'échange des métabolites, mais aussi au niveau des phénomènes de reconnaissance entre plante et champignon VA, nous nous efforçons de la caractériser au niveau moléculaire (GIANINAZZI-PEARSON & al., 1984). Ainsi nous avons montré que dans une cellule corticale renfermant un arbuscule, le plasmalemme - hôte synthétisé autour du

champignon est, d'une part, morphologiquement et cytochimiquement identique au plasmalemme normal (DEXHEIMER & al., 1985) et, d'autre part, doté de certaines activités enzymatiques (phosphatase neutre, ATPase) généralement absentes des cellules non-infectées du parenchyme cortical, mais typiques des cellules juvéniles et non différenciées (JEANMAIRE & al., 1985; GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1988).

Les phosphatases neutres sont considérées comme des marqueurs biochimiques de sites de production de polysaccharides pour l'édification des parois (GOFF, 1973; JEANMAIRE & al., 1985). Il est donc particulièrement intéressant de constater une activité phosphatasique neutre très intense le long du plasmalemme de l'hôte en contact avec l'arbuscule, y compris autour des jeunes hyphes où le dépôt pariétal est très réduit ou absent. Cela conforte l'hypothèse que le champignon VA interfère activement avec les processus de production du matériel pariétal, ce qui pourrait libérer des oligosaccharides qui joueraient alors le rôle de messagers chimiques cellulaires, comme il est proposé pour d'autres interactions plante/microbe (McNIEL & al., 1984).

La présence d'une activité ATPasique sur le plasmalemme est considérée comme une indication de l'existence de phénomènes actifs de transports transmembranaires (SMITH & SMITH, 1986). Au niveau des cellules du parenchyme cortical, cette enzyme est spécifiquement localisée sur le plasmalemme de la plante-hôte entourant les branches de l'arbuscule, alors que, contrairement aux phosphatases neutres, elle est absente lorsque les hyphes sont mortes. De même nous n'avons jamais observé une activité ATPasique intense sur le plasmalemme autour des hyphes colonisant les cellules externes de la racine alors que l'enzyme est très active au niveau du plasmalemme non invaginé (Pl. 1B) (GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1988). Cette localisation spécifique, autour de l'arbuscule vivant, de l'activité ATPasique plasmalemmique de l'hôte met en évidence, encore une fois, l'existence de phénomènes de reconnaissance entre plante et champignon VA. De plus la présence d'une enzyme fonctionnelle liée au transport transmembranaire sur le plasmalemme, là où l'apoplaste entre les deux symbiotes est réduite au minimum, permet de penser que les cellules infectées du parenchyme cortical acquièrent la capacité d'absorber des éléments nutritifs du sol *via* le champignon endomycorhizogène VA et d'expliquer, du moins partiellement, la meilleure croissance des plantes endomycorhizées.

CONCLUSIONS

De l'ensemble de ces travaux, il ressort clairement que de nombreux mécanismes doivent intervenir dans les interactions symbiotiques plante-champignon endomycorhizogène VA . Toutefois certains de ces mécanismes mis en route ont été observés aussi lors de l'infection par des champignons pathogènes (dépôt pariétal, stimulation de la production de phytoalexines, accumulation de protéines b), alors que d'autres apparaissent comme spécifiques à l'association symbiotique endomycorhizienne. En particulier le maintien de l'intégrité struc-

turale et physiologique du plasmalemme de la cellule-hôte, contraste avec les altérations observées dans le cas des infections par des pathogènes biotrophes (MANNERS & GAY, 1983; WOODS & GAY, 1987). La connaissance de cette membrane et des modifications qu'elle subit en présence du symbiote fongique est donc essentielle à la compréhension des phénomènes impliqués dans la spécificité symbiotique des associations endomycorhiziennes VA. Cela paraît d'autant plus vrai que chez des plantes non hôtes, les infections par les champignons VA ne comptent pas d'arbuscules (HIRREL & al., 1978; OCAMPO & al., 1980; PLENCHETTE & TROUVELOT, 1986) et les rares cas de pénétrations intracellulaires par ces champignons n'ont été trouvé que dans des cellules mortes (GLENN & al., 1985; GIANINAZZI-PEARSON & GIANINAZZI, 1988).

BIBLIOGRAPHIE

BAILEY J.A. and MANSFIELD J.W., 1982 – *Phytoalexins.* Glasgow, Blackie & Son, 334 p.

BONFANTE-FASOLO P., DEXHEIMER J., GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON V. and SCANNERINI S., 1981 – Cytochemical modifications in the host-fungus interface during intracellular interactions in vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Pl. Sci. Lett.* 22 : 13-21.

BONFANTE-FASOLO P., 1982 – Interactions entre plante-hôte et champignon mycorhizogène : rôle des polysaccharides et des protéines des parois cellulaires. *Les Colloques de l'INRA* 13 : 41-47.

BONFANTE-FASOLO P., 1984 – Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. *In* : POWELL C.L. & BAGYARAJ D.J., *VA Mycorrhizae.* Boca Raton, Florida, CRC Press : 5-32.

CARR J.P., DIXON D.C., NIKOLAU B.T., VOELKERDING K.V. and KLESSIG D.F., 1987 – Synthesis and localization of parthogenesis-related proteins in tobacco. *Mol. & Cell. Biol.* 7 : 1580-1583.

DEXHEIMER J., GIANINAZZI S. and GIANINAZZI-PEARSON V., 1979 – Ultrastructural cytochemistry of the host-fungus interfaces in the endomycorrhizal association *Glomus mosseae / Allium cepa. Z. Pflanzenphysiol.* 92 : 191-206.

DEXHEIMER J., MARX C., GIANINAZZI-PEARSON V. and GIANINAZZI S., 1985 – Ultracytological studies of plasmalemma formations produced by host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Cytologia* 50 : 461-471.

GIANINAZZI S., AHL P., CORNU A., SCALLA R. and CASSINI R., 1980 – First report of host b-protein appearance in response to a fungal infection in tobacco. *Physiol. Pl. Pathol.* 16 : 337-342.

GIANINAZZI S., 1984 – Genetic and molecular aspects of resistance induced by infections or chemicals. *In* : NESTER T. & KOSUGE E.W., *Plant Microbe Interactions. Molecular and Genetic Perspectives.* New York, MacMillan Publishing Co. Inc., 1 : 321-342.

GIANINAZZI-PEARSON V., MORANDI D., DEXHEIMER J. and GIANINAZZI S., 1981 – Ultrastructural and ultracytochemical features of a *Glomus tenuis* mycorrhiza. *New Phytol.* 88 : 633-638.

GIANINAZZI-PEARSON V., 1984 – Host-fungus specificity, recognition and compatibility in mycorrhizae. *In* : DENNIS E.S., HOHN B., HOHN Th., KING P.T., SCHELL J. & VERMA D.P.S., *Genes Involved in Microbe Plant Interactions. Advances in Plant Gene Research, Basic Knowledge and Application.* Vienne, New York, Springer-Verlag : 225-253.

GIANINAZZI-PEARSON V., DEXHEIMER J., GIANINAZZI S. and JEANMAIRE C., 1984 – Plasmalemma structure and function in endomycorrhizal symbioses. *Z. Pflanzenphysiol.* 114 : 201-205.

GIANINAZZI-PEARSON V. et GIANINAZZI S., 1986 – Connaissance actuelles des bases physiologiques et biochimiques des effets des endomycorhizes sur le comportement des plantes. *Physiol. Vég.* 24 : 253-262.

GIANINAZZI-PEARSON V. and GIANINAZZI S., 1988 – Morphological and functional compatibility between symbionts in vesicular arbuscular endomycorrhizal associations. *In* : SCANNERINI S., SMITH D.C., BONFANTE-FASOLO P. & GIANINAZZI-PEARSON V., *Cell to Cell Signals in Plant Animal and Microbial Symbiosis.* NATO ASI, série H, Cell Biology 17 : 73-84.

GLENN M.G., CHEW F.S. and WILLIAMS P.H., 1985 – Hyphal penetration of *Brassica* (Cruciferae) roots by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.* 99 : 463-472.

GOFF C.W., 1973 – Localization of nucleoside diphosphatase in the onion root tip. *Protoplasma* 78 : 397-416.

HIRREL M.C., MEHRAVARAN H. and GERDEMANN J.W., 1978 – Vesicular-arbuscular mycorrhizae in the Chenopodiaceae and Cruciferae : do they occur ? *Canad. J. Bot.* 56 : 2813-2817.

JACQUELINET-JEANMOUGIN J., GIANINAZZI-PEARSON V. and GIANINAZZI S., 1988 – Endomycorrhizae in the Gentianaceae. II. Ultrastructural aspects of symbiont relationships in *Gentiana lutea* L. *Symbiosis* 3 : 1-17.

JEANMAIRE C., DEXHEIMER J., MARX C., GIANINAZZI S. and GIANINAZZI-PEARSON V., 1985 – Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on the distribution of neutral phosphatase activities in root cortical cells. *J. Pl. Physiol.* 119 : 285-293.

KINDEN D.A. and BROWN M.R., 1975 – Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. II. Intracellular hyphae and vesicules. *Canad. J. Microbiol.* 21 : 1768-1780.

MANNERS J.M. and GAY J.L., 1983 – The host-parasite interface and nutrient transfer in biotrophic parasitism. *In*: CALLOW J.A., *Biochemical Plant Pathology.* Chichester, John Wiley : 163-195.

Mc NIEL M., DARVILLE A.G., FRY S.G. and ALBERSHEIM P., 1984 – Structure and function of primary cell walls of plants. *Annual Rev. Biochem.* 53 : 625-63.

MORANDI D., BAILEY J.A. and GIANINAZZI-PEARSON V., 1984 – Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiol. Pl. Pathol.* 24 : 357-364.

OCAMPO J.A., MARTIN J. and HAYMAN D.S., 1980 – Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plants grown together. *New Phytol.* 84 : 463-472.

PLENCHETTE C. et TROUVELOT A., 1986 – Influence du génome de la betterave à sucre (*Beta vulgaris*) sur son aptitude à la mycorhization. *In* : GIANINAZZI-PEARSON V. & GIANINAZZI S., *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae.* Paris, INRA : 559-561.

SMITH F.A. and SMITH S.E., 1986 – Movement across membranes : physiology and biochemistry. *In* : GIANINAZZI-PEARSON V. & GIANINAZZI S., *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Paris, INRA : 75-84.

VANDERBOSCH K.A., 1986 – Light and electron microscopic visualisation of uricase by immunogold labelling of sections of resin-embedded soybean nodules. *J. Microscopy* 143 : 187-197.

WOODS A.M. and GAY J.L., 1987 – The interface between haustoria of *Puccinia poarum* (monokaryon) and *Tussilago farfara*. *Physiol. & Molec. Pl. Pathol.* 30 : 167-185.